

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta

Specializace ve zdravotnictví

Zdravotnická technika



Autor: Jana Drncová

*Vyhodnocení pilotního projektu vyšetřování funkce štítné
žlázy u těhotných žen*

*Evaluation of pilot project examination of thyroid gland function in group of pregnant
women*

(Bakalářská práce)

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Drahomíra Springer, Ph.D.

Pracoviště:

ÚKBLD 1.LF UK a VFN, U Nemocnice 2, Praha 2

Praha 2010

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby tato závěrečná práce byla archivována v Ústavu vědeckých informací 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a zde užívána ke studijním účelům. Za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repozitáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze

Souhlasím - Nesouhlasím*

V Praze, 24. 5. 2010

Podpis

*Nehodící se škrtněte

Identifikační záznam:

DRNCOVÁ, Jana. *Vyhodnocení pilotního projektu vyšetřování funkce štítné žlázy u těhotných žen.* [*Evaluation of pilot project examination of thyroid gland function in group of pregnant women*]. Praha, 2010. 44 s., 3 příl. Bakalářská práce (Bc.). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, ÚKBLD 1. LF UK a VFN. Vedoucí práce Springer, Drahomíra.

Poděkování

Bakalářská práce byla vypracována pod odborným vedením paní Ing. Drahomíry Springer, Ph.D., které tímto děkuji nejen za cenné rady a připomínky, ale i za čas který mi věnovala a za její ochotu a trpělivost.

Obsah

Abstrakt	7
Abstract	8
Seznam zkratek	9
1. Cíl práce	10
2. Úvod	11
2.1. Topografie štítné žlázy	11
2.1.1. Makroskopická anatomie štítné žlázy	11
2.1.2. Mikroskopická anatomie štítné žlázy	12
2.2. Funkce štítné žlázy	13
2.2.1. Syntéza a střádání hormonů ve folikulárních buňkách	13
2.2.2. Sekrece hormonů štítné žlázy	13
2.3. Regulace funkce štítné žlázy	13
2.3.1. Tyreotropin uvolňující hormon	14
2.3.2. Tyreotropin	14
2.4. Hormony štítné žlázy	15
2.4.1. Tyroxin (T ₄)	15
2.4.2. Trijodtyronin (T ₃)	16
2.4.3. Reverzní trijodtyronin (rT ₃)	16
2.4.4. Účinky hormonů na organismus	16
2.5. Onemocnění štítné žlázy v graviditě	18
2.5.1. Hypotyreóza	18
2.5.2. Tyreotoxikóza	19
2.5.3. Průběh porodu a kojení	19
2.5.4. Onemocnění vzniklá po porodu	20
2.5.5. Nález solitárního uzlu v graviditě	21
3. Materiál a metody	22
3.1. Schéma projektu	22
3.2. Použité přístroje a metody	23
3.2.1. UniCel DxI® 800 (Immunotech a Beckman Coulter Company)	24
3.2.2. Immulite 2000/2500 (Siemens)	25
3.2.3. Cobas® e411 (Roche)	26
3.2.4. ADVIA® Centaur™ (Siemens)	27
3.2.5. Brahms Kryptor	29
3.3. Referenční meze	30
3.4. Statistické hodnocení	31
4. Výsledky	32
4.1. Počet vyšetření v jednotlivých laboratořích	32
4.1.1. Provedená vyšetření	32
4.1.2. Nasmlouvaná vyšetření	32
4.2. Věkové rozložení skupiny	33
4.2.1. Věkový průměr	33
4.2.2. Věkový průměr u skupin s pozitivním a negativním nálezem	34
4.3. Výsledky stanovení analytů	35

4.3.1.	Celkový záchyt TSH.....	35
4.3.2.	Celkový záchyt TSH podle jednotného referenčního intervalu.....	35
4.3.3.	Celkový záchyt FT ₄	36
4.3.4.	Vztah mezi TSH a FT ₄	36
4.3.5.	Celkový záchyt anti-TPO.....	37
4.3.6.	Vztah mezi TSH a anti-TPO.....	38
4.3.7.	Celkový počet pozitivních nálezů.....	38
4.4.	Ekonomická stránka projektu.....	39
5.	Diskuse.....	40
5.1.	Počet vyšetření v jednotlivých laboratořích.....	40
5.2.	Věkové rozložení skupiny.....	40
5.3.	Vyšetřované analyty.....	41
5.4.	Ekonomická stránka projektu.....	42
6.	Závěry.....	43
7.	Literatura.....	44
8.	Přílohy.....	46

Abstrakt

V roce 2009 proběhl ve vybraných regionech České republiky pilotní projekt vyšetřování funkce štítné žlázy, díky kterému bylo testováno navržené schéma screeningu těhotných žen. V rámci screeningu vrozených vývojových vad byly ženám v 1. trimestru těhotenství vyšetřeny, s jejich informovaným souhlasem, hladiny TSH, FT₄ a anti-TPO v séru. V případě positivity byly tyto ženy neprodleně informovány a předány do péče endokrinologa. Do projektu se zapojilo 13 předem vybraných laboratoří.

Ke stanovení analytů byly použity metody imunoanalýzy, které se v jednotlivých laboratořích lišily a u kterých tedy byly použity i rozdílné referenční intervaly.

V rámci projektu byla vyšetřena skupina 2843 žen s věkovým průměrem 29,4 let. Celkem bylo zachyceno 19,6% žen s pozitivním nálezem. Z celé vyšetřené skupiny mělo zvýšené hodnoty TSH 235 žen (8,5%), z nichž snížené FT₄ mělo 34. Sníženou hladinu TSH mělo 96 žen (3,5%), z nichž mělo zvýšenou hladinu FT₄ 14 žen. Pozitivní anti-TPO protilátky mělo 9% žen.

Z výsledku projektu vyplynulo, jaká je ochota ke spolupráci mezi gynekology a laboratořemi a kde se nachází slabá místa projektu. Ověřila se ekonomická stránka screeningu a zároveň se potvrdil poměrně velký počet žen, které v těhotenství trpí poruchou funkce štítné žlázy a potřebují léčbu.

Klíčová slova: štítná žláza, těhotenství, TSH, FT₄, anti-TPO

Abstract

In 2009 took place in selected regions of the Czech Republic pilot project examination of thyroid gland function, through which was tested the proposed scheme of screening of pregnant women. In terms of screening for congenital defects were women in the 1st trimester of pregnancy investigated with the informed consent on TSH, FT₄ and anti-TPO in serum. In the case of positive result, woman has been informed immediately and she was undertaken in care of endocrinologist. The project involved 13 pre-selected laboratories.

To determine the analyte were used immunoassay methods which differed in individual laboratories and so were also used different reference intervals too.

In frame of the project was examined a group of 2843 women with an average age of 29,4 years. In total were captured 19,6% women with a positive finding. From the whole investigated group had elevated TSH 235 women (8.5%), of whom had reduced FT₄ 34. Reduced level of TSH had 96 females (3.5%), of whom had a slightly elevated FT₄ 14 women. Elevated anti-TPO had 9% of women.

The outcome of the project showed what is the willingness for cooperation between gynecologists and laboratories and where are the weaknesses of the project. It was verified the economic aspects of screening and also was confirmed relatively large number of women who suffer from thyroid disorders during pregnancy and need treatment.

Key words: thyroid gland, pregnancy, TSH, FT₄, anti-TPO

Seznam zkratek

anti –TPO	protilátky proti peroxidáze štítné žlázy
TPOAb	protilátky proti peroxidáze štítné žlázy
FT ₄	volný tyroxin
hCG	lidský choriogonadotropin
T ₃	trijodtyronin
FT ₃	volný trijodtyronin
T ₄	tyroxin
TT ₃	vázaný trijodtyronin
rT ₃	reverzní trijotyronin
TT ₄	vázaný tyroxin
TG	tyreoglobulin
TBG	tyroxin binding globulin
TRH	tyreotropin uvolňující hormon, tyreoliberin
TSH	tyroidu stimulující hormone, tyreotropin
VVV	vrozené vývojové vady
VZP	Všeobecná zdravotní pojišťovna
MIT	monojodtyrozin
DIT	dijodtyrozin
mRNA	messenger ribonucleic acid
LDL	low-density lipoprotein
VLDL	very low-density lipoprotein
HDL	high-density lipoprotein
rTSHAb	protilátky proti TSH receptorům
PPT	poporodní tyreoiditida
TgAb	protilátky proti tyreoglobulinu
RČ	rodné číslo
CNS	centrální nervová soustava
LIS	laboratorní informační system
RIA	radioimunoanalýza
CLIA	chemiluminiscenční imunoanalýza
ECLIA	elektrochemiluminiscenční imunoanalýza

1. Cíl práce

V naší republice i v zahraničí byla provedena řada studií, které potvrzují vhodnost a význam provádění screeningu funkce štítné žlázy v těhotenství. Na tyto studie navazuje pilotní projekt screeningu štítné žlázy u těhotných žen v České republice. Cílem mé práce je vyhodnocení tohoto projektu, a to především:

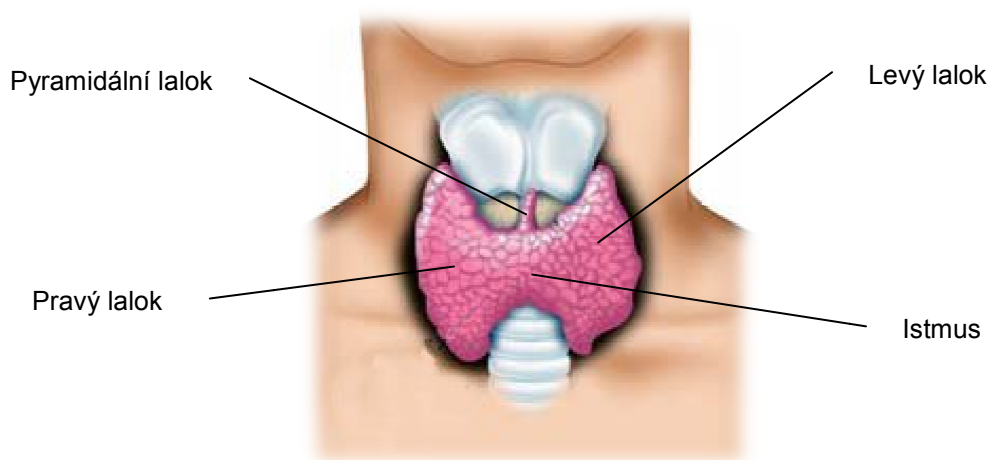
1. srovnání metodik, použitých pro stanovení parametrů,
2. srovnání pozitivních nálezů TSH, FT₄ a anti-TPO v jednotlivých regionech,
3. vyhodnocení věkového průměru vyšetřovaných žen.

2. Úvod

2.1. Topografie štítné žlázy

2.1.1. Makroskopická anatomie štítné žlázy

Štítná žláza, latinsky glandula thyroidea, má tvar písmene H (někdy U nebo V). Její hlavní částí jsou dva laloky, pravý a levý. Ty jsou uloženy vpředu na krku při bocích hrtanu a horní části průdušnice v oblasti obratlů C₅-Th₁. Laloky jsou spojené istmem, který může někdy chybět. Často z něho kraniálně vybíhá třetí menší pyramidální lalok. Na zadní ploše laloků štítné žlázy jsou umístěna čtyři příštítná tělíska, často jich je ale i více. (1)



Obr. 1. Vzhled štítné žlázy

Za normálních okolností je délka laloku 5-8 cm, šířka laloku 2-4 cm, tloušťka laloku 1,5-2,5 cm, istmus je dlouhý kolem 1,5 cm, asi stejně tak široký a jeho tloušťka je kolem 0,5 cm. Hmotnost štítné žlázy je 30-40 g, může však značně kolísat (20-60g). Ve velikosti i hmotnosti žlázy jsou rozdíly podle pohlaví a věku (u dospělých žen je žláza větší než u mužů, ve stáří se zmenšuje) a rozdíly geografické (žláza se v průměru populace zvětšuje se vzrůstající vzdáleností od moře a se stoupající nadmořskou výškou). Žláza má červenohnědou až červenofialovou barvu (podle stupně naplně cév krví). Povrch žlázy bývá hladký, někdy lehce hrbokatý, s prosvítající kresbou folikulů. (1)

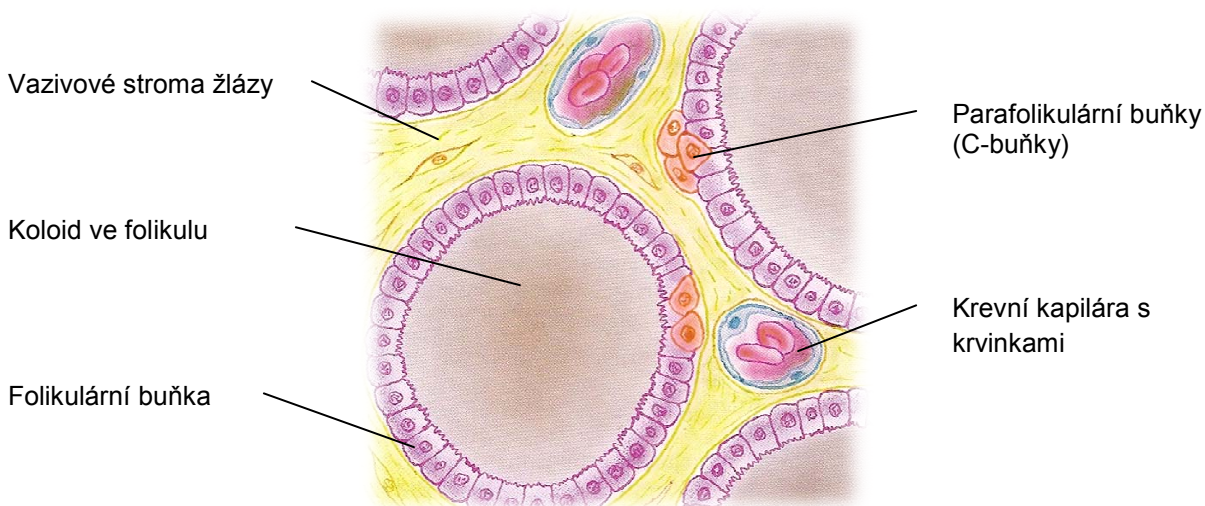
Žláza je krytá vazivovým pouzdem capsula fibrosa rozděleným ve dva listy. Capsula propria, která souvisí s povrchem žlázy, do níž vysílá vazivová septa. Capsula externa, která je uložena více zevně, navazuje na další vazivové obaly ostatních útvarů na krku. Vazivové pouzdro slouží k fixaci štítné žlázy a v prostoru mezi listy je uloženo její cévní zásobení. (1)

2.1.2. Mikroskopická anatomie štítné žlázy

Tkáň štítné žlázy je tvořena z folikulů, což jsou kulovité útvary o různém průměru tvořené jednovrstevným epitelem, které obsahují gelovitou substanci koloid. Folikulární buňky mají různou výšku, od plochých až k vysokým cylindrickým. Povrchové vazivové pouzdro capsula propria vysílá do parenchymu žlázy vazivová septa. Ta se postupně ztenčují a dosahují na úroveň každého z folikulů, které od sebe navzájem oddělují jemným vazivem. Žláza je bohatě vaskularizovaná s extrémně vyvinutou sítí krevních a lymfatických kapilár, obklopujících folikuly. (2)

Morfologický vzhled folikulů se mění v závislosti na jejich umístění ve žláze a na funkčním stavu. V téže žláze můžeme vedle sebe najít větší folikuly vyplněné koloidem, jejichž epitel je kubický až plochý, spolu s folikuly opatřenými výstelkou buněk cylindrických. Nehledě na tyto místní variace považujeme žlázu za hypofunkční tehdy, obsahuje-li většina folikulů epitel plochý. Z toho vyplývá, že pokud je folikul aktivní, jeho buňky jsou vysoké cylindrické, obsahuje méně koloidu a jeho celková velikost je menší, než neaktivních folikulů. (2)

Jiným typem elementů jsou parafolikulární buňky (C-buňky) nacházené buď ve folikulárním epitelu, či ve formě izolovaných shluků mezi jednotlivými folikuly. Tyto buňky syntetizují hormon kalcitonin, jehož úkolem je snižovat koncentraci kalcia útlumem kostní resorpce. (2)



Obr. 2. Stavba štítné žlázy

2.2.Funkce štítné žlázy

2.2.1. Syntéza a strádání hormonů ve folikulárních buňkách

Tento děj probíhá v několika fázích: syntéza tyreoglobulinu, absorpce jodidu z krve, aktivace jodidu a jodování tyrozinových skupin tyreoglobulinu. Štítná žláza je jedinou endokrinní žlázou, jejíž sekreční produkt je skladován ve velkém množství. Tento způsob skladování je výjimečný i v tom, že k němu dochází v extracelulárním koloidu. (2)

Tyreoglobulin je glykoprotein, vznikající ve folikulárních buňkách. K syntéze jeho proteinové části dochází na ribozomech. Proteinový řetězec je následně transportován do endoplazmatického retikula k posttranskripčním úpravám, kde dochází k připojení sacharidu. Řetězec dále putuje do Golgiho komplexu, odkud je ve váčku transportován na apikální povrch buňky a zde je uvolněn do koloidu v lumen folikulu. (2)

Absorpce jódu je ve štítné žláze uskutečňována aktivním transportem využívajícím jodidové pumpy. Tato pumpa je umístěna v cytoplazmatické membráně na bazálním povrchu folikulárních buněk a je stimulována tyreotropinem. Jód je vychytáván z krve jako anorganická sůl (jodid sodný nebo draselný). Během aktivace je jodid oxidován enzymem tyreoidální peroxidázou a obratem se váže v koloidu na tyrozinové skupiny tyreoglobulinu. Tím vzniká MIT (monojodtyrozin) a DIT (dijodtyrozin), které se kondenzují a tvoří jodtyroniny.

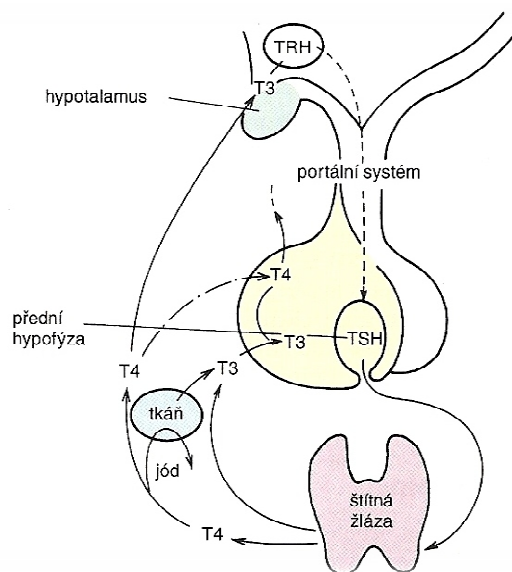
- MIT + DIT = trijodtyronin (T₃)
- DIT + DIT = tetrajodtyronin (tyroxin, T₄). (2,3)

2.2.2. Sekrece hormonů štítné žlázy

Vytvořený T₃ a T₄ je skladován v koloidu, v lumen folikulů. Po sekrečním podnětu (viz. dále) stimulované folikulární buňky pohlcují koloid procesem pinocytózy. Pinocytární váčky pak splývají s lysozomy. V těchto lysozomech je obsažen enzym lysozomální proteáza, který rozrušuje peptidické vazby a uvolňuje T₃ a T₄ z molekuly tyreoglobulinu a ty jsou pak následně uvolněny do cytoplazmy a exocytózou přecházejí do krevních kapilár.

2.3.Regulace sekrece štítné žlázy

Sekrece hormonů štítné žlázy je řízena prostřednictvím osy hypothalamus – adenohypofýza – štítná žláza. Hlavním faktorem v regulaci hormonů štítné žlázy jsou dva hormony - hypothalamický TRH a hypofyzární TSH.



Obr. 3. Schéma regulace

2.3.1. Tyreotropin uvolňující hormon

Tyreotropin uvolňující hormon (TRH) je tripeptid, syntetizovaný neurony supraoptického a paraventriculárního jádra hypothalamu, ze kterého je transportován hypofyzárním portálním venózním systémem do adenohypofýzy. Zde stimuluje buňky adenohypofýzy k sekreci tyreotropinu. Estrogeny zvyšují počet TRH-receptorů a tím zvyšují citlivost na TRH. TRH je rychle metabolizován, jeho poločas je asi 5 min. Hladiny TRH v séru jsou velmi nízké, mezi 25 – 100 pg/ml, ale jeho hladina se běžně nestanovuje. Sekrece TRH je ovlivňována některými hormony a léky. (4)

2.3.2. Tyreotropin

Tyreostimulační hormon neboli tyreotropin (TSH) je glykoprotein syntetizovaný a vylučovaný tyreotropními buňkami adenohypofýzy. Jeho molekula se skládá z dvou podjednotek α a β . Podjednotka α je společná i dalším glykoproteinům adenohypofýzy, podjednotka β je pro každý glykoprotein odlišná a zodpovídá jak za specifické vazebné vlastnosti, tak za biologickou aktivitu. (4)

TSH usměrňuje růst tyreocytů (folikulárních buněk) a syntézu a sekreci hormonů štítné žlázy. Váže se na specifické TSH-receptory na membráně tyreocytu. TSH vyvolává změny v morfologii tyreocytů, zrychluje resorpci a hydrolýzu tyreoglobulinu, snižuje obsah koloidu a tyreoglobulinu. Pod jeho vlivem se zvyšuje prokrvení, zvětšuje se štítná žláza a vzniká struma. Sekrece TSH probíhá v pulzních vlnách v průběhu 24 hodin a pulsová amplituda je

okolo 0,6 $\mu\text{U/l}$, její vrchol je obvykle mezi půlnocí a 4. hodinou ranní. Toto maximum není vázáno na spánek, příjem potravy nebo na sekreci jiných hypofyzárních hormonů. Poločas plazmatického TSH je asi 30 min, denní produkce je 40 – 150 $\mu\text{U/den}$. (4)

Syntéza a sekrece TSH jsou řízeny dvěma hlavními systémy. Jedním je zpětná vazba a to přes hladinu T_3 v tyreotropních buňkách hypofýzy. Druhým je již zmíněný TRH, který řídí glykosilaci, aktivaci a uvolnění TSH. Mimo to i určité léky a hormony inhibují sekreci TSH, např. somatostatin, dopamin a glukokortikoidy. (4)

2.4. Hormony štítné žlázy

2.4.1. Tyroxin (T_4)

Tyroxin (3,5,3',5'-tetrajodtyronin, T_4) je hlavní hormon secernovaný a syntetizovaný štítnou žlázou v množství asi 80 μg denně. Je vlastně prohormonem, protože je ve tkáních dejodázami přeměňován na vlastní účinný hormon trijodtyronin. Vylučování do cirkulace je závislé na hypofyzárním hormonu TSH a je regulováno pomocí negativní zpětné vazby zahrnující štítnou žlázu, hypofýzu a hypotalamus. (5,6)

V séru se tyroxin váže na bílkovinné nosiče, hlavním transportním proteinem je vazebný globulin pro tyroxin (TBG), který váže 70% tyroxinu. Ostatní tyroxin se dělí mezi albumin a prealbumin. Pouze 0,04 % celkového tyroxinu tvoří volná frakce (FT_4), která může bezprostředně vstupovat do buněk. Hladina celkového tyroxinu je tedy výrazně ovlivňována koncentrací sérových proteinů. Z toho důvodu se dává přednost stanovení FT_4 . (6)

Stanovení tyroxinu používáme k potvrzení hypotyreózy či hypertyreózy, které byly diagnostikovány z vyšetření TSH. Jestliže je TSH při diagnostice hypertyreózy sníženo, potvrzují zvýšené hladiny FT_4 a FT_3 diagnózu. Při začínající hypotyreóze klesají hladiny FT_4 dříve než TT_4 a k potvrzení diagnózy hypotyreózy při snížených hladinách FT_4 a TT_4 slouží nález zvýšené koncentrace TSH nebo přehnaná odpověď TSH na TRH stimulaci. Tyroxin je také hlavním ukazatelem, podle kterého sledujeme účinek léčby hyperfunkce štítné žlázy tyreostatiky, protože tyroxin je první hormon, který se při této léčbě normalizuje, a teprve později se normalizují hladiny trijodtyroninu. Je také ukazatelem, který umožňuje diagnostiku centrální hypotyreózy tam, kde není zvýšeno TSH. (6)

Zvýšené hladiny FT_4 nemusí vždy znamenat zvýšení produkce hormonů štítné žlázy. Hladiny FT_4 mohou být ovlivněny některými léky nebo závažným onemocněním, které je lokalizováno mimo štítnou žlázu. (4)

2.4.2. Trijodtyronin (T_3)

Většina T_3 vzniká dejodací T_4 vlivem dejodáz a méně než 20% vniká přímo ve štítné žláze. (4) V séru se vyskytuje ve volné biologicky aktivní formě (FT_3) v 0,1 - 0,3 %, zatímco asi 99,8 % je vázáno na transportní proteiny. Stejně jako tyroxin je vázán na plazmatické bílkoviny, ale oproti T_4 je jeho vazba 10x slabší. Koncentrace TT_3 je tedy závislá na změnách vazebné kapacity transportních proteinů, proto je ze stejného důvodu jako u T_4 preferováno stanovení FT_3 . Stanovení samotného T_3 není využíváno k základním diagnózám a samotné posouzení jeho hladiny není spolehlivým testem zejména při posuzování hypotyreózy.

Asi čtvrtina zdravých lidí má subnormální hladiny T_3 , a u hypotyreózních osob se snižuje hladina T_3 mnohem později v průběhu choroby než T_4 . T_3 bývá často snížen u těžkých nebo protrahovaných onemocnění organismu s katabolizmem. (6)

Stanovení FT_3 je indikováno při diagnostice tzv. T_3 toxikózy, hypertyreózy s převážnou sekrecí trijodtyroninu (asi 5% hypertyreóz), kdy je sice suprimován TSH, ale FT_4 je normální. Je také využíváno ke kontrole adekvátní léčby u centrálních hypotyreóz spolu s FT_4 . (6)

Koncentrace TT_3 a FT_3 jsou závislé mimo tyreoidální sekrece a vazby na transportní proteiny též na periferní konverzi T_4 na T_3 . Pokud je tato konverze snížena, snižují se i hladiny TT_3 a FT_3 například vlivem léků. Dále je hladina do určité míry ovlivněna věkem. Hned po narození se zvyšuje do 3. – 4. dne, v dětství mírně stoupá a u starších lidí nalézáme hladiny T_3 asi o 10 – 50 % nižší než u mladší populace. Snížené koncentrace T_3 v důsledku snížené periferní konverze T_4 na T_3 se vyskytují u žen nad 70 let a u mužů nad 60 let.

Hladina T_3 bývá také zvýšena v graviditě, při podávání antikoncepce, v klimakteriu a je ukazatelem nedostatečného přísunu jódu.

2.4.3. Reverzní trijodtyronin (rT_3)

Reverzní T_3 vzniká v plazmě stejně jako T_3 dejodací z T_4 . Pro běžnou diagnostiku funkčních poruch štítné žlázy nemá stanovení rT_3 význam. Využívá se koeficientu TT_3/rT_3 při sledování pacientů s těžkým celkovým onemocněním a je důležitým parametrem zhoršení stavu pacienta. (5)

2.4.4. Účinky hormonů na organizmus

Jak již bylo řečeno, základním účinným hormonem je trijodtyronin (T_3). Ten patří mezi hormony, které působí přímo v buňce, do níž nejprve proniká. Průnik do buňky je aktivní děj

a může ovlivňovat účinek hormonu v různých tkáních. Po vstupu do buňky se T_3 váže na receptory v jádře buňky, což indukuje produkci mRNA, který nese informaci pro tvorbu různých enzymů, které mají vliv na metabolické aktivity v různých buněčných systémech. Takto hormony štítné žlázy působí téměř na všechny buňky organismu, působí tedy komplexně. Navíc je jasné, že řada účinků T_3 je nepřímá. To znamená, že ovlivňuje účinky ostatních hormonů, např. katecholaminů, glukagonu, růstového hormonu a kortikoidu a navíc často ovlivňuje jejich sekreci a degradaci. Další buněčnou organelou, na kterou hormony štítné žlázy působí, jsou mitochondrie, kde stimulují energetický metabolismus. (3,4)

Hormony štítné žlázy jsou nezbytné pro správnou diferenciaci tkání během vývoje organismu. V nitroděložním vývoji je nejprve zárodek odkázán na hormony mateřské, od 12. týdne si syntetizuje tyreoidální hormony již ve vlastní štítné žláze. Nedostatek hormonů vede k poruchám vývoje celého organismu, ale nejzávažnějšími důsledky jsou poruchy vývoje centrálního nervového systému. Klinickým důsledkem nedostatku hormonů v nitroděložním období vývoje je kretenismus. Pokud není u plodu přítomna fungující štítná žláza, ale matka má dostatek hormonů štítné žlázy, vývoj probíhá téměř normálně a hypotyreóza se u dětí rozvíjí až po porodu. Při včasném nasazení hormonů je pak vývoj jedince nenarušený. (4)

Hormony štítné žlázy ovlivňují metabolismus glukózy. Zvyšují resorpci glukózy ze střeva, její produkci v játrech. Současně však zvyšují využití glukózy ve svalstvu a jiných tkáních a to z části i bez přítomnosti inzulínu. Pouhý nedostatek či nadbytek hormonů štítné žlázy nevyvolává vznik manifestního diabetes. (4)

Metabolismus lipidů je také významně ovlivňován hormony štítné žlázy. Při nedostatku hormonů dochází k vzestupu cholesterolu, zejména LDL a VLDL. To může být velice rizikové pro rozvoj aterosklerózy. Naopak při nadbytku hormonů je snížený celkový cholesterol, ale také HDL-cholesterol. (4)

V srdci mají hormony štítné žlázy pozitivně chronotropní (zvýšená frekvence) a pozitivně inotropní (zvětšení síly stahů) účinek. Projevem hypotyreózy je bradykardie a snížení srdečního výdeje. Hypertyreóza je naopak provázena tachykardií. Účinky na srdce jsou podobné účinkům katecholaminů. (3)

Důsledkem hypermetabolického (spotřebu kyslíku zvyšujícího) působení hormonů štítné žlázy je zvýšení krvetvorby, zprostředkované erytropoetinem. Kromě toho hormony zrychlují reflexní odpověď. Diagnosticky je využitelné prodloužení doby reflexu Achillovy šlachy při hypotyreóze. Nadbytek hormonů může vést k urychlení resorpce kostí a následně k osteoporóze, zejména u starších lidí. (3)

2.5. Onemocnění štítné žlázy v graviditě

Vzájemné ovlivnění štítné žlázy a gravidity je známo po staletí, například mírné zvětšení štítné žlázy bývalo u mladých žen spojováno s těhotenstvím. Nesprávná činnost štítné žlázy má především v době koncepce a v prvních týdnech gravidity důsledky jak pro matku a průběh těhotenství, tak pro plod. Základní podmínkou fyziologického vývoje plodu je přiměřený přísun jódu, a to po celou dobu gravidity. Většina studií uzavírá, že optimální příjem jódu je 200-250 µg denně po celou dobu gravidity i kojení. (5)

Ve vztahu ke graviditě se setkáváme s těmito situacemi:

- žena je léčena pro onemocnění štítné žlázy již před graviditou
- onemocnění je diagnostikováno v průběhu gravidity
- onemocnění vznikne po porodu
- onemocnění je asymptomatické a je diagnostikováno při cíleném vyšetření pro sterilitu, pro komplikace v graviditě, potrácení či v rámci prevence (5)

2.5.1. Hypotyreóza

Tento stav negativně ovlivňuje jak koncepci, tak průběh gravidity i vývoj plodu. Pokud se žena pro hypotyreózu léčila již před otěhotněním, je třeba ihned zkontrolovat pro potvrzení koncepce stav pacientky a laboratorní nález. Je velmi důležité upravit substituci co nejdříve, obvykle ji zvýšit asi o 30%. Kombinované substituční preparáty s obsahem T_4 a T_3 se nepodávají, protože T_3 hůře prostupuje placentou a laboratorní výsledek by neodpovídal reálnému zásobení matky a plodu. V graviditě je obrát T_4 zvýšen, proto je třeba koncentrace TSH a FT_4 raději kontrolovat každý trimestr. Po šestinedělí se většinou lze vrátit k původní substituční dávce. (5)

Těžce hypotyreózní ženy mívají anovulační cykly a většinou tedy neotěhotní, není to však pravidlem. Průběh neléčené nebo nedostatečně léčené hypotyreózy může být komplikován spontánními aborty, preeklampií, hypertenzí, abrupcí placenty, předčasným porodem, poporodním krvácením a tyto komplikace se objevují i u matek se subklinickou hypotyreózou. Děti matek s hypotyreózou jsou častěji postiženy kongenitálními anomáliemi a poruchou psychomotorického vývoje. Pokud je subklinická hypotyreóza diagnostikována až v graviditě, je nezbytné ihned zahájit substituci. Plná dávka T_4 je zpravidla 100 µg denně. (5)

2.5.2. Tyreotoxikóza

Pokud je žena léčena pro tyreotoxikózu před otěhotněním, má být do koncepce vyléčena. Ženám léčeným pro tyreotoxikózu se z lékařského hlediska gravidita zakazuje. Tyreotoxikóza může vzniknout až v graviditě, vyskytuje se u 1-2 z 1000 těhotenství. Při neléčené tyreotoxikóze mohou nastat četné komplikace: potrácení, preeklampsie, předčasný porod, u novorozenců bývá nízká porodní hmotnost a mohou být známky hypermetabolizmu. Po potvrzení diagnózy je zahájena léčba tyreostatiky, ale volíme nejnižší účinnou dávku, protože všechny tyreostatika procházejí placentou. Koncentrace FT₄ má být na horní hranici normálního rozpětí. Pokud se nedaří tyreotoxikózu zvládnout středně vysokými dávkami tyreostatik nebo diagnostikujeme některý z následujících ukazatelů, je nutné uvážit operaci na rozhraní 2. a 3. trimestru: intolerance tyreostatik, přetrvání vysokých koncentrací rTSHAb (protilátky proti TSH receptorům), růst strumy, komplikující endokrinní orbitopatie. Po operaci ihned zahajujeme substituci plnou dávkou T₄, na výsledky histologie nečekáme. Pokud by byla prokázána malignita, odložila by se léčba radiojódem až po porodu, po ukončení kojení. Těhotenství a vývoj plodu operací není narušen. (5)

2.5.3. Průběh porodu a kojení

Komplikace při porodu nastávají jen u těžší hypotyreózy a u těžší tyreotoxikózy. Při hypotyreóze je, s ohledem na zpomalený metabolismus a sníženou clearance, opatrnost nezbytná při podávání léků a především anestetik. Stane-li se výjimečně, že přichází k porodu matka s těžkou hypotyreózou, je nutné zajistit vitální funkce, neboť je riziko útlumu dechových center, bradykardie, disrytmie, hyponatrémie a subileózního stavu. Zvláštní péče musí být věnována novorozenci. (5)

Pokud se nepodaří zajistit eufunkci do porodu a jsou známky tyreotoxikózy, je indikován porod císařským řezem. U novorozence se projeví příznaky tyreotoxikózy, vyžadující intenzivní terapii. (5)

Kojení při hypotyreóze není kontraindikováno, substituční léčba matky je samozřejmě nutná. U tyreotoxikózy lze kojení povolit při malé dávce tyreostatik, jejich koncentrace v mléce je minimální. Nicméně je vhodné kojené dítě z hlediska funkce tyreoidy monitorovat. (5)

2.5.4. Onemocnění vzniklá po porodu

- **Poporodní tyreoiditida**

Poporodní tyreoiditida (PPT) vzniká nebo je provokována graviditou, projevuje se převážně přechodnou tyreotoxikózou nebo hypotyreózou, u některých žen jde však o onemocnění s trvalými následky. V graviditě se dostávají buňky plodu do matčina oběhu a vznikají mikrochimerické elementy. Po porodu pak končí období imunologické tolerance a u některých žen může nastat imunitní reakce proti vlastním tyreoidálním antigenům. PPT se manifestuje za 2-6 měsíců po porodu, zhruba u dvou třetin žen se projeví spíše přechodnou tyreotoxikózou, u jedné třetiny přímo rozvojem hypotyreózy. Hyperfunkce trvá 4-8 týdnů, její příčinou je destrukce folikulů a uvolněním T_4 a T_3 do oběhu. Příznaky jsou často nenápadné a jsou považovány za důsledky poporodního vyčerpání: zvýšená únava, nervozita a podrážděnost, pocení, palpitace, spíše úbytek hmotnosti. Hyperfunkční příznaky PPT spontánně odezní, nastane buď úprava k normálu, nebo se vyvine hypofunkce, která rovněž může být přechodná, ale asi u 20% žen po porodu je trvalá. S ohledem na dynamiku choroby doporučujeme opakovat laboratorní vyšetření zpočátku i po 4-6 týdnech. Příznaky manifestující se únavou, depresi, myalgiemi, zimomřivostí, nemožností redukce hmotnosti, nedostatkem iniciativy, spolu se zvýšeným TSH potvrdí diagnózu hypotyreózy, chybí však rTSHAb a protilátky TPOAb a TgAb mohou být zvýšené nebo negativní. Čím vyšší je hodnota anti-TPO, tím je pravděpodobnější pozdější rozvoj hypotyreózy. (5)

Terapie PPT při známkách tyreotoxikózy spočívá v podání β -blokátorů, tyreostatika nepodáváme. Při rozvoji hypotyreózy zahájíme substituci, kterou můžeme po 4-8 měsících při příznivém stavu a chybění strumy přerušit a po 5-6 týdnech vyšetřit TSH. Protilátky mohou přetrvávat, i když hypotyreóza odezní. U některých žen je v pozdější době možný návrat dysfunkce, proto je vhodné ženy po prodělané PPT dispenzarizovat a upozornit na riziko tyreoidální funkční poruchy. Pravděpodobnost poruchy zvyšuje tyreoidální familiární zátěž, přítomnost jiných autoimunitních chorob, především diabetes mellitus 1. typu. (5)

- **Relaps tyreotoxikózy po porodu**

Aktivace tyreotoxikózy se dostaví 2-4 měsíce po porodu, příznaky jsou obvyklé, často je žena zpočátku přičítá únavě z péči o dítě. Diagnostický postup a léčba jsou obvyklé, kojení je možné ponechat, pokud vystačíme s menší dávkou tyreostatik. Často si však situace vyžádá přerušení kojení. Žena, která prodělala ataku tyreotoxikózy, má být upozorněna na možnost

relapsu v graviditě nebo po porodu. Optimální je vyřešit chorobu operací ještě před otěhotněním. (5)

2.5.5. Nález solitárního uzlu v graviditě

Každá nově vzniklá rezistence ve štítné žláze v graviditě je jednoznačně indikována k urgentnímu vyšetření ultrazvukem a případně dalším postupům (aspirační biopsie tenkou jehlou, odběr krve na vyšetření kalcitoninu, funkční tyreoidální testy). V diferenciální diagnostice uvažujeme o postehomragické cystě, lymfocytární tyreoiditidě, adenomu i karcinomu tyreoidy, zahrneme i vzácnější diagnózy. Léčebné pokusy jsou obdobné jako u žen netěhotných. Pokud je diagnostikována malignita, můžeme volit mezi dvěma postupy:

- indikovat totální tyreoidektomii mezi 2. -3. trimestrem, po operaci ihned zahajujeme plnou substituci, je-li indikována léčba radiojódem, uskutečníme ji až po ukončení kojení,
- nebo žena porodí a operace se uskuteční po porodu.

První variantu podporují znalosti o zvýšené růstové aktivitě tkání v graviditě, zkušenost s bezproblémovými operacemi u žen ve 2. -3. trimestru a v neposlední řadě i ohled na novorozence – matka může kojít a plně se věnovat mateřství. Někteří však volí druhou variantu s odůvodněním, že karcinomy tyreoidy rostou pomalu.

3. Materiál a metody

3.1. Schéma projektu

Projekt proběhl v roce 2009 pod garancí endokrinologické a biochemické odborné společnosti. Cílová skupina byly těhotné ženy (do 11. týdne těhotenství) bez příznaků poruchy štítné žlázy a bez onemocnění štítné žlázy v anamnéze. V rámci pilotního projektu bylo vyšetřeno 2843 žen v počátcích těhotenství jako součást odběru prvotrimestrálního screeningu Downova syndromu.

Do projektu byly zařazeny pouze klientky Všeobecné zdravotní pojišťovny. Z Fondu prevence VZP ČR byla Správní radou VZP ČR na tento pilotní projekt schválena částka ve výši 3 milionů Kč. Laboratoř obdržela za provedený souborný výkon 580,- Kč. Z této částky uhradila 80,- Kč indikujícímu lékaři gynekologovi za činnosti spojené se zařazením ženy do pilotního projektu.

Prováděná vyšetření dle sazebníku výkonů:

- 93195 Tyreotropin (TSH) 140 bodů
- 93189 Tyroxin volný (FT₄) 147 bodů
- 93217 Autoprotilátky proti tyreoidální peroxidáze (anti-TPO) 378 bodů

To je celkem 665 bodů. Dohoda odborných společností vedla ke snížení celkového finančního zatížení na 500 bodů za soubor výše uvedených vyšetření, pokud budou prováděna společně a to 1x v rámci projektu na 1 RČ.

Do projektu se zapojilo 13 laboratoří ve vybraných regionech (viz. příloha 3), které se pravidelně účastní cyklu externí kontroly kvality pro měřené parametry. Podmínkou pro zvolení regionu byl endokrinolog, ochotný ke spolupráci a laboratorní zázemí, vyšetřující těhotné na VVV. Pro účast laboratoře byly rozhodující následující podmínky:

- provádění prvotrimestrálního screeningu vrozených vývojových vad (VVV) – důvod: spolupráce s gynekology,
- okamžité a kvalitní zpracování vybraných tyreoidologických testů,
- zájem o spolupráci.

Ženy byly stručně informovány gynekologem o prováděném vyšetření (příp. informačním letákem) a s jejich souhlasem (viz. příloha 2) gynekolog zajistil odběr vzorku krve a odeslal do příslušné laboratoře spolu se žádankou (viz. příloha 1). V laboratoři byla vyšetřena skupina 3 testů (TSH, anti-TPO a FT₄). Ženám, u kterých byla nalezena v provedených testech odchylka, byla nabídnuta možnost okamžitého vyšetření u endokrinologa, který byl zapojen do projektu a přijal těhotnou přednostně.

Cílem projektu bylo:

- Zachycení žen s hypotyreózou, která ohrožuje fyziologický vývoj plodu, především vývoj CNS.
- V případě zjištění vysoké hladiny protilátek proti štítné žláze lze včas podchytit případný rozvoj poporodní tyreoiditidy u matky.
- Ověření efektivity vyšetřování a funkčnost nastaveného schématu spolupráce gynekolog, laboratoř, endokrinolog a těhotná žena.
- Úspora při provádění vyšetření – nižší proplácená suma.

3.2. Použité přístroje a metody

Tab. 1. Použité metody v jednotlivých laboratořích

Laboratoř	Metoda
Brno	TSH FT4, RIA Immunotech Dxi Beckman anti TPO
Havlíčkův Brod	TSH, FT4, anti TPO RIA Immunotech
Hradec Králové	TSH, FT4, anti TPO RIA Immunotech
Jirkov	ECLIA Roche
Karlovy Vary	Cobas E411 ECLIA Roche
Kolín	CLIA Immulite 2000/2500 Siemens
Krnov	CLIA Immulite 2000/2500 Siemens
Ostrava - Vítkovice	Dxi Beckman
VFN Praha	CLIA Centaur Siemens
Plzeň	TSH, FT4, anti TPO RIA Immunotech
Prostějov	CLIA Immulite 2000/2500 Siemens
Ústí nad Orlicí	CLIA Immulite 2000/2500 Siemens
Zlín	FT4, TSH, RIA Immunotech anti TPO BRAHMS

3.2.1. UniCel DxI® 800 (Immunotech a Beckman Coulter Company)

Je to kompaktní plně automatický uzavřený systém umožňující provádění imunoanalytických stanovení parametrů štítné žlázy, srdečních markerů, tumorových markerů, hepatálních markerů, infekčních onemocnění, anémií a dalších. Imunochemický systém je založen na použití alkalické fosfatázy jako markeru, paramagnetických mikročástic jako nosiče protilátek resp. antigenů a luminiscenční detekci využívající přeměny dioxetanfosfátu na dioxetan (substrát Lumi-Phos 530®). Doplnění reagensů a spotřebního materiálu je možné za plného provozu (bez nutnosti pauzy), výkon je 400 testů za hodinu. (7)



Obr. 4. Analyzátor UniCel DxI® 800 firmy Beckman Coulter

Ke stanovení TSH se využívá sendvičové metody. V soupravě jsou použity myši monoklonální protilátky proti dvěma různým epitopům TSH, které si vzájemně nekonkurují. Ve zkumavkách potažených první monoklonální protilátkou jsou inkubovány vzorky nebo kalibrátory s roztokem druhé monoklonální protilátky značené ^{125}I . Po inkubaci se obsah zkumavek odsaje a zkumavky se promyjí, aby se odstranila nenavázaná protilátka značená ^{125}I . Pomocí gama-čítače jsou odečteny hodnoty impulsů. Koncentrace TSH ve vzorcích je vypočtena z kalibrační křivky. Koncentrace ve vzorcích je přímo úměrná naměřené radioaktivitě. (7)

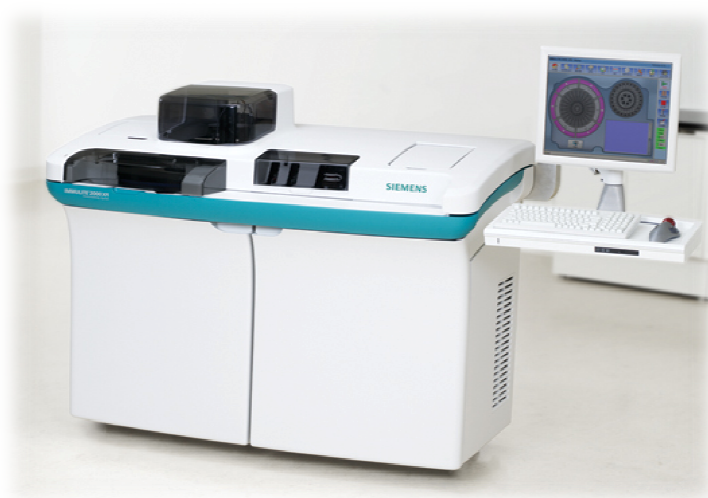
Radioimunoanalytické stanovení volného tyroxinu (FT_4) je kompetitivní stanovení, založené na použití protilátky proti tyroxinu značené ^{125}I . Neznámé vzorky a standardy se spolu s touto značenou protilátkou a biotinylovaným analogem tyroxinu (ligandem) inkubují ve zkumavkách potažených avidinem. Probíhá tak kompetice mezi volným tyroxinem ve

vzorku a ligandem o vazebná místa na protilátce. Ta část protilátky, která je vázána na ligand, se naváže na stěnu zkumavek, protože ligand je biotinylován. Po inkubaci se obsah zkumavek odsaje a změří se vázaná radioaktivita. Množství radioaktivity, vázané po inkubaci na stěny, je pak nepřímo úměrné množství volného tyroxinu ve vzorku. Sestrojí se kalibrační křivka a z ní se odečtou koncentrace FT₄ v neznámých vzorcích. (7)

Radioimunoanalytické stanovení anti-TPO je kompetitivní metoda, kde soutěží autoprotilátky proti TPO ze vzorku se dvěma myšími protilátkami proti TPO, pokrytými na povrchu zkumavek, o vazbu na lidskou, rekombinantní ¹²⁵I-TPO. (7)

3.2.2. Immulite 2000/2500 (Siemens)

Immulite Siemens je plně automatizovaný, kontinuální analyzátor s přímým přístupem, který provádí chemiluminiscenční imunologické analýzy za použití logicky řízené inkubace s optimálním využitím inkubátoru, promývacích stanic a dávkovacích jehel. Pro in vitro diagnostické metody používá sérum, plazmu nebo vzorky moči. Veškeré testovací procedury v analyzátoru jsou automatizované a umožňují testování ve velkých objemech, s průchodem až 200 výsledků za hodinu. Tento analyzátor umí provádět celkem 91 metod. K dispozici je 24 reagensií uložených ve vlastním chlazeném prostoru. (8)



Obr. 5. Analyzátor Immulite 2000 firmy Siemens

Analyzátor používá protilátku specifickou pro daný test nebo polystyrenové kuličky potažené antigenem jako pevnou fází. Kulička se umístí do speciální reakční zkumavky, která slouží pro inkubaci, promytí a generování signálu. Po inkubaci vzorku s reagensií značenou

alkalickou fosfatázou se reakční směs oddělí od kuličky odstředěním reakční zkumavky podél svislé osy vysokou rychlostí. Kapalina se dostane do koaxiální usazovací komory, která je spojená s promývací stanicí kulička/zkumavka. Během několika vteřin proběhnou čtyři samostatná promytí, čímž je umožněno postupné souvislé zpracování reakčních zkumavek se stejným načasováním. Kulička zůstává v reakční zkumavce bez zbytkového nenavázaného analytu. Navázaný analyt se poté kvantifikuje pomocí dioxetanového substrátu za vzniku světla. Světlo se vyzáří při reakci chemiluminiscenčního substrátu s reagensí značenou alkalickou fosfatázou navázanou na kuličku. Množství vyzářeného světla je přímo úměrné množství analytu původně obsaženého ve vzorku. Detekce vyzářeného světla proběhne v trubici fotonásobiče (PMT) a pro každý vzorek se vypočítá výsledek. (8)

Stanovení anti-TPO představuje kompetitivní sekvenční enzymovou chemiluminiscenční imunochemickou reakci. Metoda stanovení TSH je jednokroková enzymová imunoanalýza založená na sendvičovém principu. Stanovení FT₄ se provádí také kompetitivní metodou.

3.2.3. Cobas® e411 (Roche)

Cobas® e411 je softwarově řízený stolní plně automatizovaný analyzátor pro heterogenní imunoanalýzu založený na technologii elektrochemiluminiscence. Umožňuje kontinuální práci se vzorky a částečně i se spotřebním materiálem. Výkon je 80-85 testů za hodinu. K analýze využívá vzorky séra, plazmy, moči a slin. (9)



Obr. 6. Analyzátor Cobas® e411 firmy Roche

Pro TSH se užívá sendvičový princip stanovení. Inkubuje se 50 µl vzorku, biotinylovaná monoklonální protilátka proti TSH a monoklonální protilátka proti TSH, značená rutheniovým komplexem. To vše reaguje za tvorby sendvičového komplexu. Po přidání mikročástic, potažených streptavidinem, se komplex váže na pevnou fázi prostřednictvím interakce mezi biotinem a streptavidinem. Reakční směs je nasáta do měřicí

cely, kde jsou mikročástice zachyceny magnetickým polem na povrchu elektrody. Nenavázané složky jsou odstraněny roztokem ProCell. Přivedené napětí na elektrodě vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem. Výsledky jsou vyhodnoceny z kalibrační křivky. (9)

Stanovení FT₄ se provádí pomocí kompetičního testu. Inkubuje se 15 µl vzorku a specifická protilátka proti T₄ značená rutheniovým komplexem. Po přidání biotinylovaného T₄ a streptavidinem potažených mikročástic jsou dosud volná vazebná místa značené protilátky obsazena a vytváří se komplex protilátka-hapten. Celý komplex se váže na pevnou fázi prostřednictvím interakce mezi biotinem a streptavidinem. Reakční směs je nasáta do měřicí cely, kde jsou mikročástice zachyceny magnetickým polem na povrchu elektrody. Nenavázané složky jsou odstraněny roztokem ProCell. Přivedené napětí na elektrodě vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem. Výsledky jsou vyhodnoceny z kalibrační křivky. (9)

Ke stanovení anti-TPO se používá kompetiční test. Nejprve je 20 µl vzorku inkubováno s protilátkami proti TPO značenými rutheniovým komplexem. Po přidání biotinylované TPO a mikročástic potažených streptavidinem soutěží protilátka proti TPO ze vzorku s rutheniem značenými protilátkami proti TPO o biotinylovaný TPO antigen. Celý komplex se váže na pevnou fázi prostřednictvím interakce mezi biotinem a streptavidinem. Reakční směs je nasáta do měřicí cely, kde jsou mikročástice zachyceny magnetickým polem na povrchu elektrody. Nenavázané složky jsou odstraněny roztokem ProCell. Přivedené napětí na elektrodě vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem. Výsledky jsou vyhodnoceny z kalibrační křivky. (9)

3.2.4. ADVIA® Centaur™ (Siemens)

ADVIA® Centaur™ je automatický analyzátor s chemiluminometrickou detekcí. Separace komplexu antigen - protilátka se provádí magneticky. Detekuje se chemiluminiscenční signál vznikající rozpadem akridiniového esteru působením H₂O₂ po přidání alkalického roztoku. Imunochemický chemiluminiscenční analyzátor ADVIA® Centaur™ je samostatnou jednotkou, která zahrnuje dávkování vzorků i reagensů, inkubaci, detekci a automatické vyhodnocení výsledků. Analyzátor je určen k nepřetržitému provozu a celkem 30 reagensů uloženo uvnitř má vlastní chlazený prostor. Výkon je 240 testů za hodinu. (10)



Obr. 7. Analyzátor Advia® Centaur™ firmy Siemens

Pro kvantitativní stanovení TSH je využívána sendvičová imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií, která užívá konstantního množství dvou protilátek. Relativní světelné jednotky naměřené analyzátozem jsou přímo úměrné koncentraci TSH ve vzorku. Mez detekce metody je 0,004 mIU/l. Reagencie jsou v kazetách se dvěma typy roztoků:

a) Solid Phase – polyklonální ovčí anti TSH protilátka kovalentně vázaná na paramagnetické částice ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory a ochrannými činidly.

b) Lite Reagent – monoklonální myší anti-TSH protilátka značená akridiniovým esterem ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory a ochrannými činidly.

Ke stanovení je potřeba 200 μ l séra. (10)

Pro stanovení FT₄ se používá kompetitivní imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií. FT₄ ze vzorku soutěží s T₄ značeným akridiniovým esterem o omezené množství anti-T₄ protilátky (polyklonální králíčí), která je kovalentně vázaná na paramagnetické částice. Mezi koncentrací FT₄ ve vzorku a relativními světelnými jednotkami naměřenými analyzátozem existuje nepřímá úměra. Reagencie jsou v kazetách se dvěma typy roztoků:

a) Solid Phase – polyklonální králíčí anti-T₄ protilátka kovalentně vázaná na paramagnetické částice v barbitalovém pufru s proteinovými stabilizátory, EDTA a azidem sodným (<0,1%).

b) Lite Reagent – T₄ značený akridiniovým esterem v barbitalovém pufru s proteinovými stabilizátory, EDTA a azidem sodným (<0,1%).

Ke stanovení je třeba 25 µl séra. Mez detekce metody je 1,3 pmol/l. (10)

Pro stanovení anti-TPO se používá stejně jako u stanovení FT₄ kompetitivní imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií. Protilátka proti peroxidáze ze vzorku soutěží s monoklonální myší anti-TPO protilátkou kovalentně vázanou na paramagnetické částice o omezené množství lidské TPO, která je vázána na monoklonální myší protilátku značenou akridiniovým esterem. Mezi koncentrací anti TPO ve vzorku a relativními světelnými jednotkami (RLU) naměřenými analyzátozem existuje nepřímá úměra. Reagencie jsou v kazetách se třemi typy roztoků:

a) Solid Phase – monoklonální myší anti-TPO protilátka kovalentně vázaná na paramagnetické částice ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory.

b) Lite Reagent – lidská TPO spojená s monoklonální myší protilátkou značenou akridiniovým esterem ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory.

c) anti-TPO Diluent – lidská plazma se stabilizátory a azidem sodným.

Potřebný objem vzorku je 30 µl. Mez detekce metody je 15 kIU/l. (10)

3.2.5. Brahms Kryptor

Princip měření vychází z technologie TRACE (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission), která měří signál emitovaný z imunokomplexu s určitou časovou prodlevou. Je to homogenní systém, má automatické ředění vzorku s okamžitou reanalýzou, možnost měření statimových vzorků a připojení k LIS. (11)



Obr. 8. Analyzátor Kryptor Brahms

Test anti-TPO je kompetiční imunoanalýza pro kvantitativní stanovení autoprotilátek proti tyroidní peroxidáze (TPO) v lidském séru. Kryptor využívá výhradně enzymaticky aktivní, nativní TPO. Tato TPO je nepřímo značena monoklonální anti-TPO protilátkou. Toto umožňuje, aby se TPO prezentovala ve svém nativním tvaru tak, aby se všechny anti-TPO protilátky mohly navázat na antigen. Toto je kritické, protože převážná většina přirozených TPO protilátek je namířena proti třírozměrným strukturám TPO. (11)

3.3.Referenční meze

V České republice se velmi liší referenční rozmezí podle jednotlivých laboratoří. Jedním z důvodů je používání rozdílných metod a výrobců používaných souprav. Hodnoty referenčního rozmezí použité v pražské laboratoři byly vypočítány pro těhotné.

Tab. 1. Referenční intervaly v jednotlivých laboratořích

Laboratoř	Referenční intervaly
Brno	TSH 0,17-3,0 mU/l FT4 11,5-23,0 pmol/l anti-TPO větší než 9 kIU/l
Havlíčkův Brod	TSH 0,15-5,0 mU/l FT4 11,5-23,0 pmol/l anti-TPO větší než 34 kIU/l
Hradec Králové	TSH 0,15-3,5 mU/l FT4 11,0-23,0 pmol/l AntiTPO větší než 50 kIU/l
Jirkov	TSH 0,27-4,2 mU/l FT4 11-22 pmol/l cutt off pro anti TPO je 35
Karlovy Vary	TSH 0,27 - 4,2 mU/l fT4 10,0 - 23,0 pmol/l anti-TPO 0 - 34 kIU/l
Kolín	TSH 0,3 - 4,0 mU /l fT4 10,3 - 25,0 pmol/l cut off anti-TPO 35 IU/ml
Krnov	TSH 0,4-4,0 mU/l FT4 9,4-21,4 pmol/l cutt off pro anti-TPO je 35
Ostrava - Vítkovice	TSH 0,34-3,0 mU/l FT4 11,1-20,0 pmol/l cutt off pro anti-TPO je 10 40 šedá zóna
VFN Praha	TSH 0,06-3,67 mU/l FT4 10-23 pmol/l cutt off pro anti-TPO je 143

Plzeň	TSH 0,15-5,0 mU/l FT4 11,5-23,0 pmol/l anti-TPO větší než 34 kIU/l
Prostějov	TSH 0,34 - 4,4 mU/l FT4 10 -25 pmol/l anti -TPO < 10 kU/l
Ústí nad Orlicí	TSH 0,34 - 4,4 mU/l FT4 10 -25 pmol/l anti -TPO < 10 kU/l
Zlín	TSH 0,17-4,05 mU/l FT4 11.5 - 23 pmol/l cutt off pro anti-TPO je 40, poz>60

3.4.Statistické hodnocení

Statistická analýza byla prováděna pomocí programu Statistika Cz 6.0 (StatSoft, Praha 6, Česká republika). Pro určení statistické významnosti rozdílu věkového průměru u zdravých těhotných a u těhotných s pozitivním nálezem v některém z parametrů byl věkový rozdíl obou skupin hodnocen podle hladiny významnosti $p < 0,001$.

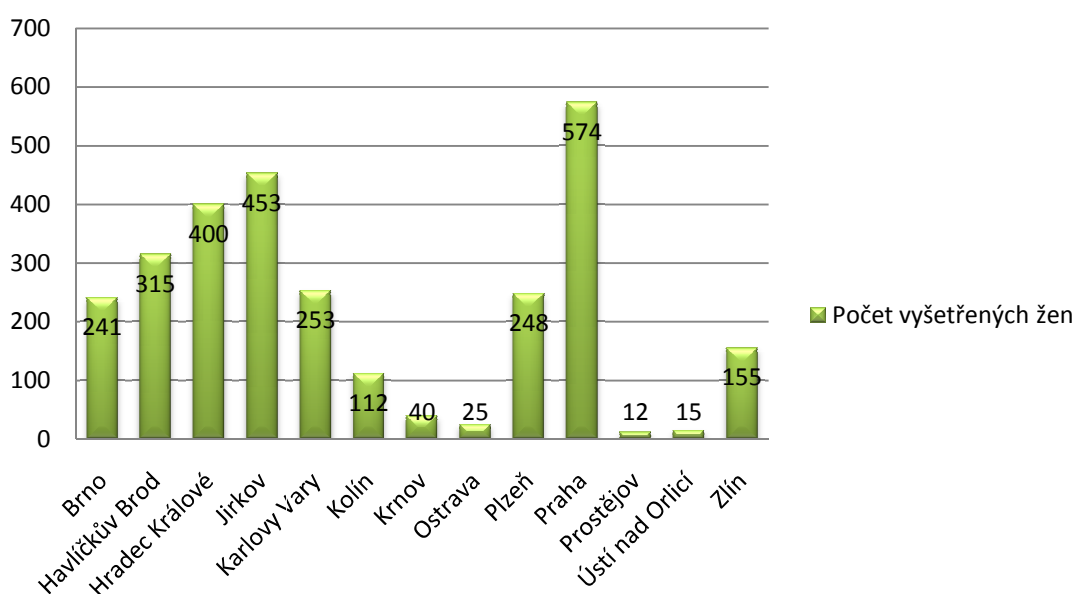
4. Výsledky

4.1. Počet vyšetření v jednotlivých laboratořích

4.1.1. Provedená vyšetření

V každé laboratoři byl vyšetřen jiný počet těhotných žen. Celkem bylo vyšetřeno 2843 žen, což vychází průměrně 219 vyšetření na jednu laboratoř. Nejvíce vyšetření bylo provedeno v laboratoři v Praze (574), a to přibližně 20% všech vyšetření. Nejméně vyšetření provedla laboratoř v Prostějově (12), pouhých 0,5%.

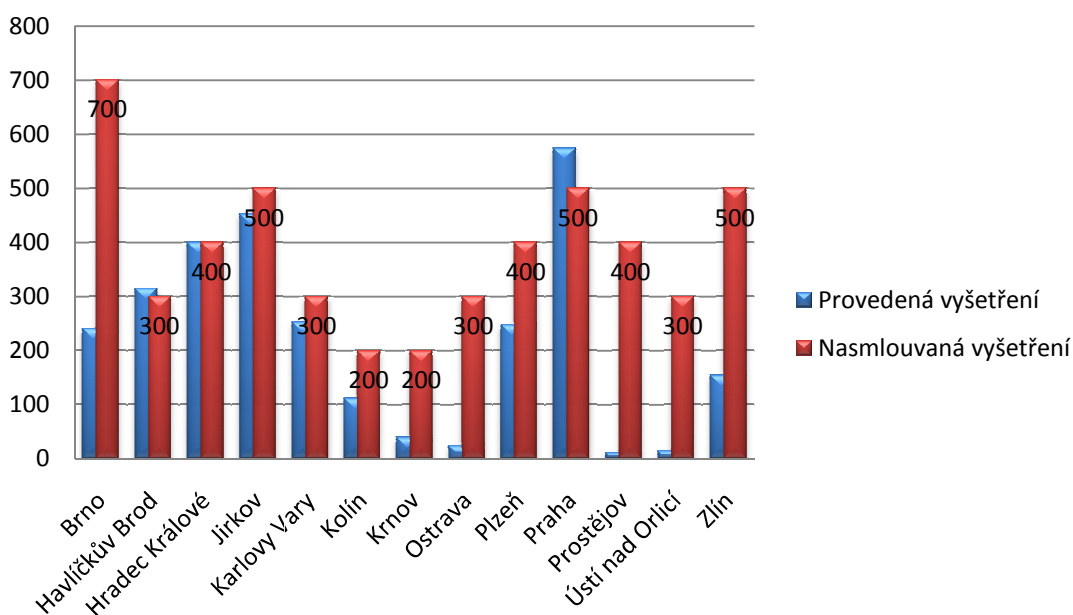
Graf 1. Počet vyšetření v jednotlivých laboratořích



4.1.2. Nasmlouvaná vyšetření

Každá laboratoř měla jiný počet nasmlouvaných vyšetření. Dohodnutý počet vyšetření splnila pouze laboratoř v Hradci Králové. Vyšší počet vyšetření provedla laboratoř v Havlíčkově Brodě o 15 a v Praze o 74. Ostatní laboratoře provedly méně vyšetření, než bylo nasmlouváno.

Graf. 2. Nasmlouvaná vyšetření

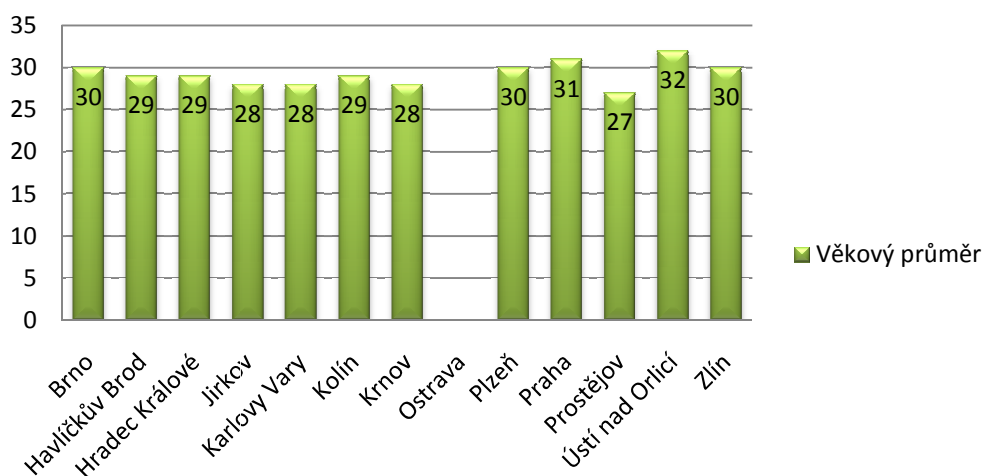


4.2. Věkové rozložení skupiny

4.2.1. Věkový průměr

Průměrný věk pro celou skupinu v celkovém počtu 2843 žen, které byly vyšetřeny v rámci projektu, byl 29,4 let. Nejmladším účastnicím bylo 15 let, nejstarším 49. Region s nejnižším věkovým průměrem byl Prostějov s průměrem 27 let, region s nejvyšším věkovým průměrem bylo Ústí nad Orlicí s průměrem 32 let. Průměrný věk účastnic z Ostravy nebylo možné vyhodnotit a zahrnout do celkového průměru, protože ostravská laboratoř nedodala věkové údaje účastnic screeningu.

Graf 3. Věkový průměr v jednotlivých regionech

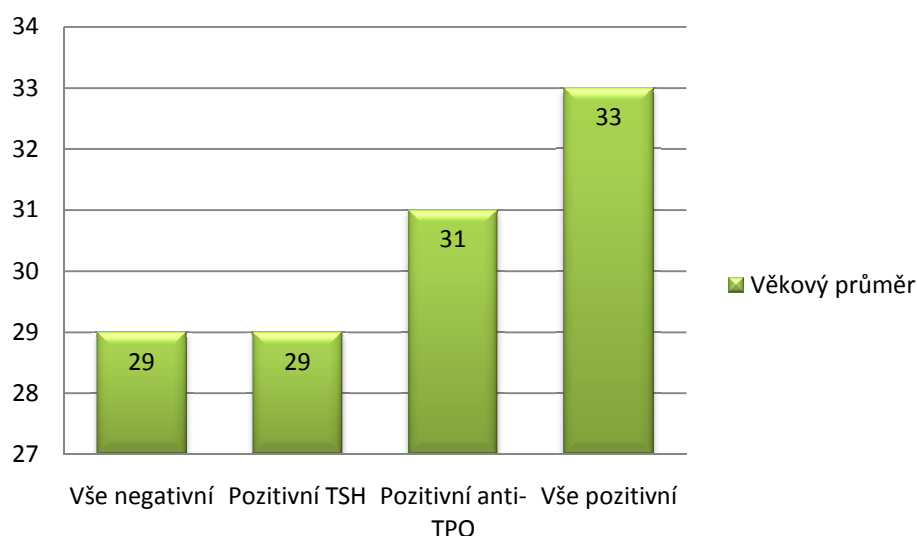


4.2.2. Věkový průměr u skupin s pozitivním a negativním nálezem

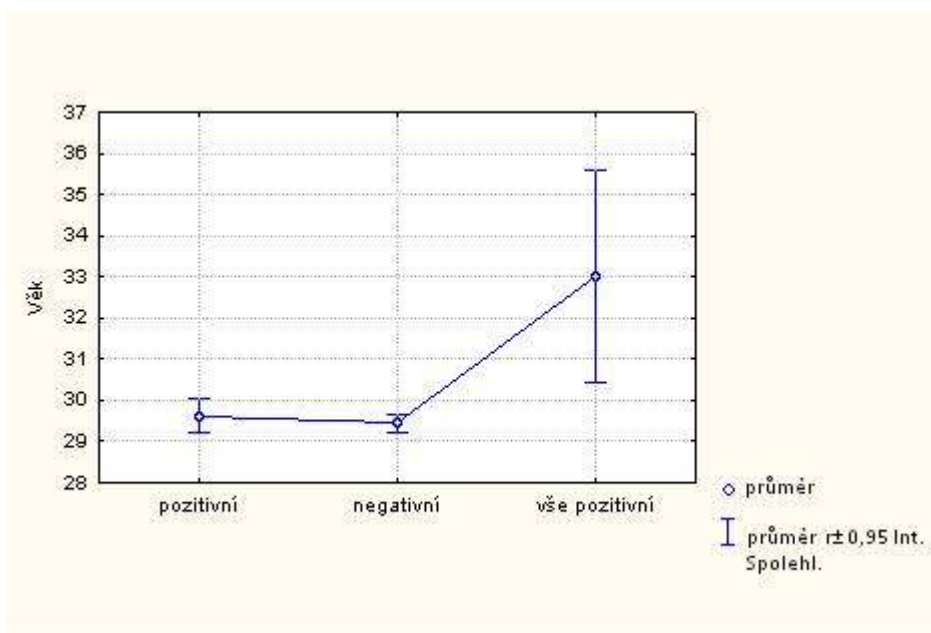
Průměrný věk žen s negativním nálezem ve všech sledovaných parametrech byl 29,2 let. Věkový průměr žen s pozitivním nálezem u všech tří sledovaných parametrů TSH, FT₄ a anti-TPO byl 33 let. Rozdíl věkových průměrů zdravých a pozitivních ve všech parametrech je 4 roky. To je statisticky významné na hladině významnosti $p < 0,05$, jak je vidět na grafu 5. Celkový věkový průměr žen s pozitivním nálezem byl 29,6 let. Věkový rozdíl je 0,4 roku, což je statisticky málo významné na hladině významnosti $p < 0,001$.

Do hodnocení opět nebylo možné zahrnout výsledky ostravské laboratoře.

Graf 4. Věkový průměr vzhledem k pozitivitě a negativitě nálezů



Graf 5. Věkový průměr u pozitivních a negativního nálezu

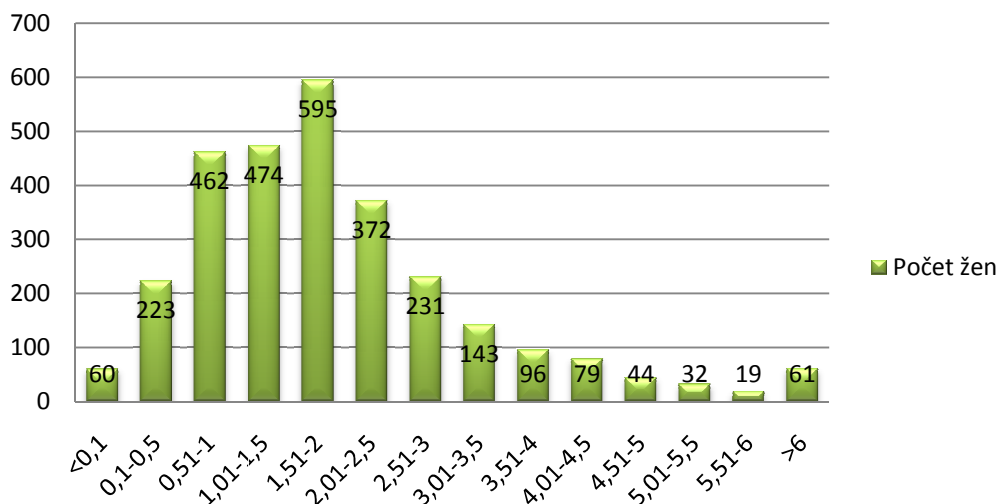


4.3. Výsledky stanovení analytů

4.3.1. Celkový záchyt TSH

V celkovém souboru 2843 vyšetřených těhotných bylo negativních 2508 žen (88%). Pozitivních bylo 331 (12%), z toho mělo sníženou hladinu TSH 96 žen (3,5%) a zvýšenou hladinu TSH mělo 235 žen (8,5%).

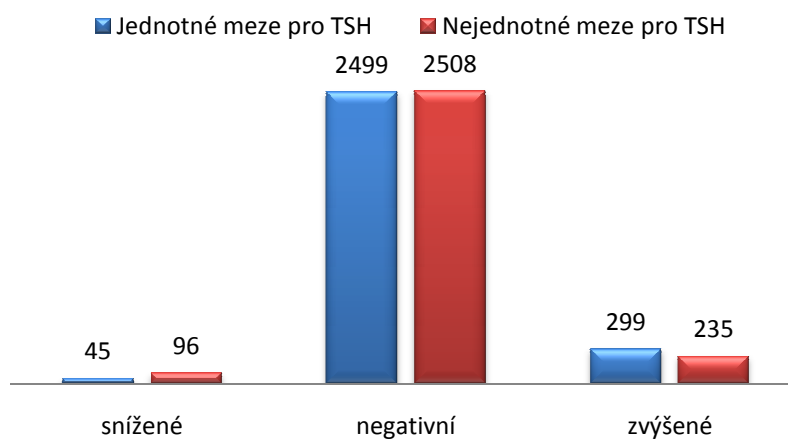
Graf 6. Rozložení hladin TSH v celkovém souboru vyšetřených žen



4.3.2. Celkový záchyt TSH podle jednotného referenčního intervalu

Pokud použijeme vypočítané referenční hodnoty TSH pro těhotné, vychází počet pozitivních žen na 344 (12%), z toho sníženou hladinu TSH má 45 žen (1,5%) a zvýšenou hladinu 299 žen (10,5%). Negativních by bylo 2499 žen (88%).

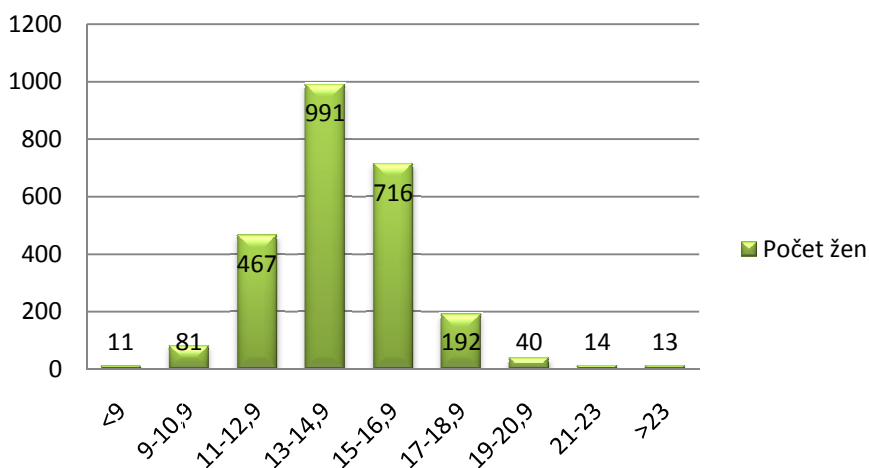
Graf 7. Srovnání výsledků podle použitých referenčních intervalů



4.3.3. Celkový záchyt FT₄

V celkovém souboru vyšetřených byl počet těhotných s negativním výsledkem hladiny FT₄ 2728 žen (96%). Pozitivní nález byl u 115 žen (4%), z toho sníženou hladinu FT₄ mělo 100 žen (3%) a zvýšenou hladinu FT₄ mělo 15 žen (1%). Do výsledků nebylo možné zahrnout hodnoty z laboratoře v Havlíčkově Brodě, kde nezměřili hodnoty FT₄ pro všechny těhotné.

Graf 8. Rozložení hladin FT₄ v celkovém souboru vyšetřených žen



4.3.4. Vztah mezi TSH a FT₄

Z celkového počtu 331 žen mělo zvýšenou hladinu TSH bez vysoké hladiny FT₄ 201 vyšetřených. Vysoké hladiny TSH s nízkou hladinou FT₄ mělo 34 žen.

Tab. 3. Počet žen s vysokým TSH a nízkým FT₄ v jednotlivých regionech

	Vysoké TSH s normální hladinou FT ₄	Vysoké TSH s nízkým FT ₄
Brno	47	11
Havlíčkův Brod	16	4
Hradec Králové	32	9
Jirkov	24	3
Karlovy Vary	17	2
Kolín	4	2
Krnov	3	0
Ostrava	2	0
Plzeň	6	2
Praha	36	1
Prostějov	0	0
Ústí nad Orlicí	1	0
Zlín	13	0

Oproti tomu žen pouze s nízkým TSH bylo celkem 81. Nízkou hladinu TSH se zvýšeným FT₄ mělo 14 žen. Byla ovšem nalezena i jedna žena se sníženým TSH i FT₄.

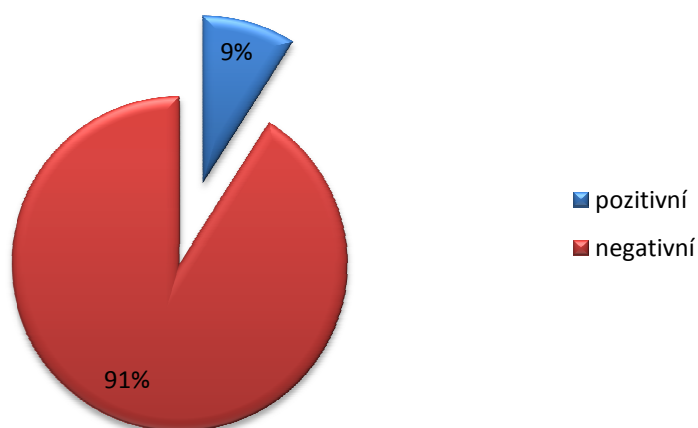
Tab. 4. Počet žen se sníženým TSH a pozitivním FT₄ v jednotlivých regionech

	Nízké TSH	Nízké TSH s vysokým FT ₄	Nízké TSH s nízkým FT ₄
Brno	2	1	0
Havlíčkův Brod	11	1	0
Hradec Králové	13	0	0
Jirkov	20	8	0
Karlovy Vary	5	2	0
Kolín	6	1	1
Krnov	4	0	0
Ostrava	1	0	0
Plzeň	2	0	0
Praha	10	1	0
Prostějov	0	0	0
Ústí nad Orlicí	2	0	0
Zlín	5	0	0

4.3.5. Celkový záchyt anti-TPO

V celkovém vyšetřeném souboru bylo nalezeno 2583 žen s negativním nálezem a 255 žen s pozitivním nálezem. V grafu 9. Je znázorněno procentuální zastoupení obou skupin.

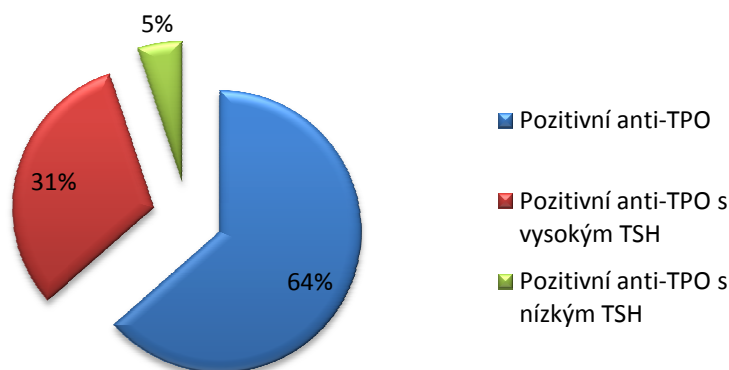
Graf 9. Procentuální zastoupení skupin s pozitivním a negativním nálezem anti-TPO



4.3.6. Vztah mezi TSH a anti-TPO

Ve skupině 255 těhotných s pozitivním anti-TPO bylo 162 žen, které měly pozitivní pouze tyto protilátky. Počet žen s pozitivním anti-TPO a zvýšenou hladinou TSH bylo 80. Současně sníženou hladinu TSH s pozitivním anti-TPO mělo 13 žen.

Graf 10. Procentuální zastoupení skupin pozitivního anti-TPO



4.3.7. Celkový počet pozitivních nálezů

V celkovém souboru 2843 žen bylo nalezeno 557 těhotných s pozitivním nálezem TSH, FT₄ nebo anti-TPO, což je celkem 19,6% pozitivních žen ze všech vyšetřených v rámci pilotního projektu.

Tab. 5. Počet a procenta žen s pozitivním nálezem v jednotlivých regionech

	Celkem pozitivních	Procentuální zastoupení všech pozitivních
Brno	93	38,6%
Havlíčkův Brod	45	14,3%
Hradec Králové	90	22,5%
Jirkov	88	19,4%
Karlovy Vary	43	17,0%
Kolín	18	16,1%
Krnov	10	25,0%
Ostrava	5	20,0%
Plzeň	38	15,3%
Praha	90	15,7%
Prostějov	0	0,0%
Ústí nad Orlicí	4	26,7%
Zlín	33	21,3%

4.4. Ekonomická stránka projektu

Bodové ohodnocení za sdružený výkon bylo dohodnuto na 500 bodů. V tabulce 6. je ovšem vidět, jak se v současnosti změnilo jednotlivé hodnocení daných vyšetření a celkový rozdíl je nyní 75 bodů (25 za každé vyšetření).

Bodový rozdíl mezi dohodnutou cenou a součtem cen za jednotlivá vyšetření je 165 bodů. Při celkovém počtu 2843 vyšetření se tak ušetřilo 469 095 bodů. Hodnota bodu v roce 2009 byla 0,88 Kč. Celkově se tedy ušetřilo 412 803 Kč.

Tab. 6. Porovnání bodového ohodnocení jednotlivých výkonů

	dříve	nyní	rozdíl
TSH	140	165	25
FT4	147	172	25
anti-TPO	378	403	25
celkem	665	740	75

5. Diskuse

5.1. Počet vyšetření v jednotlivých laboratořích

Každá laboratoř měla nasmlouvaný jiný počet vyšetření a, jak je vidět především z grafu 2, ne všechny laboratoře tento slíbený počet dodržely. Pokud by všechny laboratoře dodaly dohodnutý počet vyšetření, bylo by vyšetřeno celkem 5000 těhotných žen. Ve skutečnosti bylo nakonec provedeno pouze 57% vyšetření. Nejmenší počet jich provedly laboratoře v Ústí nad Orlicí a v Prostějově, kde to bylo 15 a 12 vyšetření (viz. graf 1.). To, že nebylo vyšetřeno dostatečné množství žen, se projevilo na vyhodnocení některých parametrů. Například věkový průměr v těchto dvou laboratořích se nápadně vymyká celkovému průměru (viz. graf 3.).

V celkovém hodnocení byly laboratoře v Čechách ochotnější spolupracovat, dodaly tři čtvrtě z dohodnutých vyšetření. Laboratoře na Moravě dodaly nakonec pouze asi čtvrtinu z nasmlouvaných vyšetření.

5.2. Věkové rozložení skupiny

Je všeobecně známo, a vyplývá to i ze statistik ČSÚ (13), že se v 90. letech průměrný věk těhotných žen zvýšil minimálně o pět let. Vyšší věk těhotné má vliv, kromě jiného, i na riziko zhoršení funkce štítné žlázy v těhotenství. Například Dosiou (14) rozdělila těhotné do věkových skupin. U těhotných ve věku 25 let uvádí pozitivitu anti-TPO 10,4% a u těhotných ve věku 35 let 12,6% pozitivních. Ve studii NHANES III (15) provedené na populaci v USA, je zmíněn mírný vzestup hladin TSH a anti-TPO protilátek s věkem. Věkový průměr skupiny žen vyšetřených v rámci pilotního projektu byl 29 let. Tento výsledek se shoduje s údajem ČSÚ a odpovídá tak věkovému průměru populace. Stejně tak jako u výše zmíněných studií i v tomto případě bylo nalezeno více pozitivních anti-TPO u žen ve vyšším věku. Závislost zvýšení hladiny TSH na věku těhotné se nijak neprokázala. Rozdíl věkového průměru u žen s negativním nálezem ve všech parametrech a u žen s pozitivním nálezem v jednom z parametrů se neprokázal jako statisticky významný ($p < 0,001$). Po vyhodnocení věkového průměru žen se všemi pozitivními parametry se tento rozdíl ukázal jako signifikantní ($p < 0,05$).

5.3. Vyšetřované analyty

Celkové rozložení hladin TSH nevykazuje typické Gaussovské rozdělení (viz. graf 5.) a hladiny hormonu jsou posunuty směrem k nižším hodnotám. Tento nálezný se shoduje s dalšími výzkumy a studiemi. (16) Je dokázáno, že celkově nižší hodnoty jsou způsobeny přítomností těhotenského hormonu hCG v krvi matky. Ten způsobuje snížení hladiny TSH, a proto není vhodné pro tento analyt používat referenční meze pro běžnou populaci. (5, 10) Proto byly v pražské laboratoři vypočteny hodnoty mezí pro těhotné 0,06 – 3,67 mU/l. (10) Po vyhodnocení všech dodaných výsledků podle jednotné normy vyšlo, že tímto postupem bylo zachyceno více žen se zvýšeným TSH, a to celkem o 21,4%. To je velmi důležité, protože zvýšené TSH může znamenat hypotyreózu, která může vážně ohrozit matku i dítě. Naopak díky použití vypočtených mezí bylo zachyceno mnohem méně žen s nízkým TSH. U těchto žen nemuselo být TSH sníženo z důvodu poruchy žlázy, ale vlivem hCG.

Pokud se podíváme na graf 7., který vyjadřuje celkové rozložení hormonu FT₄, tak má již typické Gaussovské rozložení. Stanovování tohoto hormonu má význam především pro potvrzení hypotyreózy při zvýšeném TSH a hypertyreózy při sníženém TSH. (16) Jak je vidět z tabulky 2, bylo nalezeno celkem 34 těhotných žen s vysokým TSH a zároveň sníženou hladinou FT₄ a bylo u nich tedy velké nebezpečí poškození nervového systému dítěte. U dalších 201 žen, které měly zvýšené pouze TSH, ale hladinu FT₄ v normě, nemuselo být dítě bezprostředně ohroženo, bylo by ovšem vhodné tyto ženy dále sledovat. Zvýšená hladina FT₄ není pro dítě tolik nebezpečná jako snížená hladina. Zajímavé ovšem je, že byl nalezen jeden případ (viz tab. 3.), kdy měla matka snížené TSH i FT₄. Základním regulačním mechanismem štítné žlázy je zpětná vazba, a proto při sníženém FT₄ by měla být naopak hladina TSH vyšší. (5) K objasnění příčiny tohoto nálezu nestačí pouze výsledky laboratorního vyšetření, ale bylo by třeba zhodnotit i další vyšetření a celkový stav těhotné.

Stanovení anti-TPO má význam pro těhotné ženy především kvůli riziku poporodní tyreoiditidy, při které se zvyšuje právě hladina protilátek proti TPO. Toto onemocnění může ženám způsobit nejen značné nepříjemnosti, ale následně i vážné komplikace (viz. kapitola 1.5.4.). V tomto vyšetřovaném souboru by měla vysoké protilátky, a tudíž i podezření na autoimunitní onemocnění, skoro každá desátá žena. To je velmi vysoké procento žen. Jak je vidět z grafu 9, bylo nalezeno 31% případů, kdy při zvýšeném anti-TPO bylo zvýšeno i TSH a nebyla tedy ohrožena pouze matka poruchou štítné žlázy, ale i vývoj plodu kvůli případnému nedostatku FT₄, který může nastat jako následek špatné funkce štítné žlázy.

5.4. Ekonomická stránka projektu

Jedním z cílů pilotního projektu bylo ověření navrženého ohodnocení za provedení testů v laboratoři. V době plánování projektu bylo bodové ohodnocení výkonů odlišné. V současné době je bodové ohodnocení TSH 165 bodů, FT₄ 172 bodů a anti-TPO 403 bodů. (12) To je dohromady 740 bodů na rozdíl od původních 665 bodů. Z toho jednoduše vyplývá, že dohodnutá hodnota 500 bodů za sdružená laboratorní vyšetření je v současné době nízká a podceněná. To je sice výhodné pro zdravotní pojišťovnu, ale ne pro laboratoře, které by tak nebyly zřejmě příliš ochotné tato vyšetření provádět. Proto by bylo vhodné navýšit bodové ohodnocení za sdružený výkon minimálně na 575 bodů. Tím sice stoupnou náklady, ale je třeba vzít v úvahu, jaké by byly finanční výdaje na případnou další léčbu ženy nebo dítěte, kdyby dysfunkce štítné žlázy nebyla včas rozpoznána.

6. Závěry

Pilotní projekt vyšetřování funkce štítné žlázy u těhotných žen bych celkově hodnotila jako přínosný. Díky tomuto projektu bylo možné otestovat spolupráci laboratoří, ekonomickou stránku projektu, ale především projekt umožnil podchytit 557 žen s pozitivním nálezem a případně tak předejít komplikacím, které by jim i jejich dětem mohla dysfunkce štítné žlázy způsobit.

1. Jak předchozí studie, tak i tento pilotní projekt dokázaly, že kombinace uvedených metod nejlépe diagnostikuje choroby štítné žlázy v graviditě. TSH umožní zhodnocení základní funkce štítné žlázy, případné snížení FT_4 odhalí aktuální ohrožení plodu hypotyreoxinemií a ženy se zvýšeným rizikem rozvoje funkční poruchy mají pozitivní anti-TPO. Jako problém se ukázala nejednotnost referenčních mezí u jednotlivých metod pro těhotné. Po aplikaci jednotných referenčních mezí pro TSH na celý vyšetřený soubor se ukázalo, jak moc se liší počet žen s nálezem zvýšené hladiny TSH, který může znamenat hypotyreózu a vážně ohrožovat především vývoj CNS dítěte. Běžně používané referenční meze neberou v úvahu vliv těhotenského hormonu hCG na TSH, jehož hladinu snižuje. Proto by použitím běžných norem nebylo zachyceno 21,4% žen se zvýšeným TSH. Největší rozdíl v referenčních mezích je u anti-TPO, až o několik desítek. To pak může působit problémy lékařům v interpretaci nálezu.

2. Bylo nalezeno celkem 235 žen se zvýšenou hladinou TSH, z toho 34 jich mělo zároveň sníženou hodnotu FT_4 . Takto zhoršená funkce štítné žlázy může ohrozit především vývoj dítěte, může dojít k předčasnému porodu nebo abrupci placenty. Žen se sníženou hladinou TSH bylo nalezeno 96 a 14 z nich mělo zároveň zvýšenou hladinu FT_4 . Při aplikaci vypočítaných mezí pro těhotné, by žen se sníženou hladinou TSH bylo o 53% méně. V případě FT_4 bylo zachyceno celkem 100 žen s nízkou hladinou tohoto hormonu a 15 s vysokou. Žen s pozitivním anti-TPO bylo celkem 255. Tyto ženy byly ohroženy vznikem poporodní tyreoiditidy a měly by se dostavit k vyšetření štítné žlázy po porodu. Celkový počet žen s pozitivním nálezem se v jednotlivých regionech pohyboval mezi 15 - 20%. Pouze v Brně byl počet pozitivních žen výrazně vyšší a to 38,6%.

3. Věkový průměr vyšetřené skupiny byl 29 let, a to se shoduje i s údaji ČSÚ. Vyšetřený vzorek žen tedy odpovídá stavu celkové populace. Ne u všech analytů se jasně prokázal vliv věku na jejich změněnou hladinu. Nejjasněji byl tento vliv patrný na anti-TPO. Věkový průměr byl nejvyšší u žen se všemi pozitivními analyty v nález. I zde se odráží skutečnost, že se stoupajícím věkem přibývá komplikací u poruch štítné žlázy.

7. Literatura

1. ČIHÁK, Radomír. *Anatomie 2 : Druhé, upravené a doplněné vydání*. Praha: Grada Publishing, 2002. 488 s. ISBN 80-247-0143-X.
2. JUNQUEIRA, Carlos; CARNEIRO, José; KELLEY, Robert. *Základy histologie*. Richard Jelínek. 7. vydání. Praha: Nakladatelství a vydavatelství H&H, 1997. 509 s. ISBN 80-85787-37-7.
3. TROJAN, Stanislav, et al. *Lékařská fyziologie*. Vydání čtvrté. Praha: Grada Publishing, 2003. 772 s. ISBN 80-247-0512-5.
4. LÍMANOVÁ, Zdeňka; NĚMĚC, Jan; ZAMRAZIL, Václav. *Nemoci štítné žlázy: Diagnostika a terapie*. První vydání. Praha: Galén, 1995. 197 s. ISBN 80-85824-25-6.
5. LÍMANOVÁ, Zdeňka, et al. *Trendy soudobé endokrinologie 2 : Štítná žláza*. První vydání. Praha: Galén, 2006. 371 s. ISBN 80-7262-400-8.
6. ZIMA, Tomáš, et al. *Laboratorní diagnostika*. První vydání. Praha: Galén, 2002. 727 s. ISBN 80-7262-201-3.
7. *Immunotech a Beckman Coulter Company* [online]. 2010 [cit. 2010-05-15]. Dostupné z WWW: <<http://www.immunotech.cz>>.
8. *Průručka uživatele : Imunochemický analyzátor*. USA : Siemens Medical Solutions Diagnostics, 2009. 205 s. 601005-0003 Rev.
9. *Roche diagnostics* [online]. 2008 [cit. 2010-05-15]. Dostupné z WWW: <<http://www.roche-diagnostics.cz/default.aspx>>.
10. SPRINGER, Drahomíra. *Vyšetřování poruch štítné žlázy v těhotenství a stanovení referenčních intervalů užívaných laboratorních tyroidálních markerů*. Praha, 2009. 61 s. Dizertační práce. 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze
11. *Brahms anti-TPO Kryptor : Návod k použití*. Henningdorf : Brahms, 2008. 5 s.
12. *Krajská nemocnice Liberec, a.s.* [online]. 2010 [cit. 2010-05-16]. Bodové hodnocení vyšetření dle Sazebníku výkonů. Dostupné z WWW: <http://www.nemlib.cz/web/index.php?menu=1_33_33_109>.
13. *Český statistický úřad* [online]. 2003, 2006 [cit. 2010-05-18]. Mateřství. Dostupné z WWW: <<http://www.czso.cz/csu/2002edicniplan.nsf/p/4015-02>>.
14. DOSIOU, Chrysoula, et al. Screening pregnant women for autoimmune thyroid disease: a cost-effectiveness analysis. *European Journal of Endocrinology*. 2008, 158, s. 841-51.

15. HOLLOWELL, Joseph, et al. Serum TSH, T4, and Thyroid Antibodies in the United States Population (1988 to 1994) : National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) . *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002, 87, 2, s. 489-499.
16. SPRINGER, Drahomíra; LÍMANOVÁ, Zdeňka; ZIMA, Tomáš; CALDA, Pavel. Vyšetření funkce štítné žlázy v těhotenství : naše výsledky. *Aktuální gynekologie a porodnictví*. 2009, 1, s. 50-54. Dostupný také z WWW: <www.actualgyn.com>. ISSN 1803-9588.

8. Přílohy

Příloha č. 1:

POUKAZ NA VYŠETŘENÍ:

Vyšetření štítné žlázy v těhotenství

Oddělení ultrazvukové diagnostiky Centrum fetální medicíny Gyn.-por. klinika VFN Apolinářská 18, Praha 2, 128 00	Jméno	R.č.	Pojišťovna VZP
ÚKBLD, U Nemocnice 2, Praha 2			
Žádám o vyšetření funkce štítné žlázy v I. trimestru			
*907			
		208	TSH
		209	FT4
		210	anti TPO
Datum, podpis a razítko lékaře			

Příloha č. 2:

INFORMOVANÝ SOUHLAS

Byla jsem srozumitelně poučena o rozšíření vyšetřování ze vzorku odebíraného pro účely screeningu Downova syndromu v I. trimestru těhotenství o vyšetřování parametrů funkce štítné

žlázy a o účelu navrhovaného vyšetření. Zároveň jsem byla ujištěna, že všechny informace získané navrhovaným vyšetřením nebudou postoupeny žádným institucím ani úřadům. V případě vědeckých publikací se objeví jen v souhrnných číslech, vylučujících mou identifikaci.

S navrhovaným rozšířením vyšetření souhlasím. Poučení jsem rozuměla.

jméno těhotné

Datum

podpis těhotné

Příloha č. 3:

Laboratoře zapojené do projektu screeningu

